Über die Umsetzung von 5-Hydroxytryptophan und 5-Hydroxytryptamin unter Hemmung der Monoaminoxydase

von

Gudrun Benker

aus Nürnberg

1964

1966 # 171

Aus der Medizinischen Klinik der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. N. HENNING)

ÜBER DIE UMSETZUNG VON 5-HYDROXYTRYPTOPHAN UND 5-HYDROXYTRYPTAMIN UNTER HEMMUNG DER MONOAMINOXYDASE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Gudrun Benker
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr. W. D. KEIDEL
Referent: Professor Dr. N. HENNING

Tag der mündlichen Prüfung: 15. September 1964

Einleitung und Problemstellung.

Im Jahre 1952 teilten ZELLER u. Mitarbeiter zum ersten Male mit, daß Isopropylnicotinylhydrazid (Iproniacid, Marsilid) bestimmte Fermente hemmt, darunter die Monoaminoxydase (29/30, vergl. Abb.1).

Bei der vergleichenden Prüfung der tuberkulostatischen Effekte der Medikamente Iproniacid und Isoniacid, erkannten ROBITZEK u. Mitarbeiter, daß Iproniacid die Psyche beeinflußt, Isoniacid dagegen nicht (14).

PLETSCHER (11), HIPPIUS (4) sowie ZETLER (31) besprechen in Übersichtsarbeiten die aufhellende Wirkung von Iproniacid auf das psychische Verhalten bei depressiven Verstimmungen und endogenen Depressionen. Weitere klinische Indikationen für Monoaminoxydasehemmer (MAOH) bestehen bei Angina pectoris und bei der primär-chronischen Polyarthritis. Bei Tumorkranken läßt sich eine euphorisierende Wirkung erreichen. Ferner wurde eine Steigerung der Nahrungsaufnahme und Gewichtserhöhung beobachtet. Opiate und Analgetica lassen sich unter MAOH einsparen.

Bei Zufuhr von MAO-Hemmern ließ sich im Tierversuch ein Konzentrationsanstieg der biogenen Amine im Gehirn feststellen, der sich bei Zufuhr der Vorstufen (z.B. 5-Hydroxytryptophan, 5-HTP) verstärkt (1, 2, 5, 6, 15, 22, 25). Umgekehrt wiesen PLETSCHER, SHORE u. BRODIE nach, daß Reserpin Serotonin und andere Neurohormone freisetzt. Die MAO-Hemmer hemmen die Entspeicherung der biogenen Amine aus dem NNM, den sympathischen Nervenfasern, der Darmwand, den Thrombozyten und dem ZNS, die durch Reserpin bedingt ist (10).

MAO-Hemmer bewirken eine Hemmung des Abbaues der biogenen Amine (21,

27), und vermindern die Menge der mit dem Harn ausgeschiedenen Metaboliten; ferner haben sie eine Wirkung auf den Histaminstoffwechsel und andere Fermentsysteme. Für Untersuchungen am Menschen wurde von SJOERDSMA als einfache Methode zur Prüfung MAO-hemmender Wirkstoffe die Serotoninbelastung per os eingeführt (20). Sie wurde auch von anderen Autoren verwandt (3, 16).

Im Hinblick auf die klinische Verwendung der MAO-Hemmer überrascht, daß bisher nur wenige biochemisch kontrollierte Verlaufsbeobachtungen vorliegen (21, 12, 13, 8, 18). Auch diese Veröffentlichungen sagen kaum etwas über die Geschwindigkeit des Wirkungseintritts, das Maximum der Wirkungsintensität und das Abklingen der Enzymhemmung aus. Deshalb erschien es sinnvoll, diesen Fragen durch Verlaufsbeobachtungen mit kurzfristig fraktionierter Harngewinnung nachzugehen.

Methodik:

Bei 2 Patientinnen mit einer endogenen Psychose wurde über einen Zeitraum von 3 Wochen der Tag- und Nachturin getrennt unter Aufsicht gesammelt. Nach einer Vorperiode von 1 Woche wurde ihnen täglich 25 mg d-l-5-Hydroxytryptophan (5-HTP) konstant zum gleichen Zeitpunkt morgens i.v. injiziert. Nach Einlegen eines Leertages (zur Beurteilung einer eventuellen Kumulation) erhielten sie zusätzlich vom 6. Tage an 500 mg Nialamid in fraktionierten Tagesdosen per os bzw. i.v.

5 Patientinnen der Med. Klinik nahmen 6 Tage lang jeweils 75 mg Serotonin (Hydroxytryptamin-Kreatininsulfat, 5-HT) um 8 Uhr früh nüchtern per os ein; am 3. Tag erfolgte, beginnend eine Stunde vor der Serotonin-Ingestion, eine 2-3-stündige Tropfinfusion mit 500 mg Nialamid. Der Harn wurde in 4- und 20-Stunden-Portionen gesammelt. Bei 5 weiteren Kranken wurden bei der Serotoninbelastung per os an 2 aufeinanderfolgenden Tagen und Niamidinfusion am 2. Tage die Harnproben mit Verweilkatheter während der ersten 4 Stunden in 15-60 Minuten-Intervallen aufgefangen; bei einer weiteren Patientin erfolgte eine Serotonindoppelbelastung unter den gleichen Bedingungen ohne Nialamidinfusion.

Krankheiten, von denen eine Beeinflussung des 5-HT-Stoffwechsels bekannt ist (17), wurden ausgeschlossen, serotoninhaltige Nahrungsmittel und störende Pharmaka wurden vermieden (7). Die Harnproben wurden nach der UDENFRIEND'schen Methode in der Modifikation von SCHÖN u. Mitarb. (19) auf ihren 5-HIE-Gehalt untersucht.

Arbeitsgang der 5-Hydroxyindolessigsäure - Bestimmung im Harn.

1.) Unter Kontrolle werden 20 ml, nach Belastung 2-10 ml Harn (je nach der zu erwartenden Extinktion) auf 10 ml aufgefüllt und mit HCL angesäuert, danach mit 5 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazin versetzt und 5 Min. geschüttelt.

2.) 20 ml Essigsäureäthylester hinzufügen und 10 Min. schütteln, Esterphase abziehen, 10 Min. Nachextraktion der wässrigen Phase mit weiteren 20 ml Essigsäureäthylester.

3.) Beide Esterphasen vereinigen, trocknen mit Natr.sulfuric. puriss.sicc.

4.) Reinigen der getrockneten Esterphasen über einer Säule mit 5 g saurem Al_2O_3 (akt. Stufe II Woelm). Zweimaliges Nachspülen mit je 5 ml Essigsäureäthylester.

5.) Essigsäureäthylester-Eluat mit 5 ml Phosphatpuffer Ph= 8,3 15 Min. extrahieren, einmal nachextrahieren, getrennte Aufbereitung beider Pufferphasen.

6.) Je 4 ml Pufferphase mit 1 ml α-nitroso-ß-naphthol (0,1%ig in 96%-igem Äthanol) und 1 ml Nitritreagenz versetzen und 5 Min. bei 37° inkubieren.

7.) Pufferphasen mit 5 ml Essigsäureäthylester ausschütteln, absaugen des Esters.

8.) Pufferphase in Cüvette einfüllen und gegen einen Leerwert von 4 ml Puffer und 1 ml Nitritreagenz mit einer Wellenlänge von 546 mμ colorimetrieren.

9.) Ablesen der Extinktion auf einer Eichkurve in γ 5-Hydroxyindolessigsäure.

10.) Addition beider Werte und Berechnung der Serotoninausscheidung nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Harnvolumen/Zeiteinheit} \times \gamma}{\text{verwendete ml Harn}} = \text{mg Serotonin/Zeiteinheit}$$

Ergebnisse:

1.) Die Basalausscheidung an 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIE) wird nach Infusion von 25 mg d-l-5-Hydroxytryptophan (5-HTP) um durchschnittlich 126 %, nach 75 mg Serotonin (5-HT) per os im Mittel auf das 7-fache erhöht. Die Rückgewinnung an 5-HIE beträgt bei der Aminosäure, auf das l-Isomer berechnet, im Mittel 40 %, beim Amin 65 % (vergl. 17, 23, 24). Eine über 24 Stunden verzögerte Ausscheidung des Metaboliten wurde nicht beobachtet. Nur hochnormale Basalausscheidungswerte der 5-HIE werden durch Nialamid gesichert vermindert.

2.) Die 5-HTP-abhängige Mehrausscheidung von 5-HIE sinkt auf das Basisniveau vor den Belastungsversuchen ab (Abb. 1).

Bei oraler Serotoninbelastung bewirkt der i.v. infundierte MAO-Inhibitor ebenfalls eine Verminderung der 5-HIE-Ausscheidung, die jedoch nicht das Basalniveau erreicht. Nach einmaliger i.v.-Infusion von Nialamid hält die Enzymhemmung nicht länger als 48 Stunden an (Tab. 1).

Während die Verminderung der 5-HIE-Ausscheidung am Belastungstag mit Nialamid und am folgenden Tag statistisch gesichert ist, bildet sich der Hemmeffekt in den folgenden beiden Tagen völlig zurück.

4.) Die fraktionierte Untersuchung der Harnproben nach oraler 5-HT-Belastung läßt erkennen, daß das Maximum der zusätzlichen 5-HIE-Ausscheidung in 3 von 6 Fällen innerhalb der 1. Stunde, bei den restlichen 3 Patienten innerhalb der 2. Stunde erreicht wird (Tab. 2). Wie früher mitgeteilt wurde, ist die Dynamik des Serotoninstoffwechsels, d.h. die Rückgewinnung der 5-HTP als 5-HIE und ihre Umsetzungsgeschwindigkeit signifikant mit der Basalausscheidung von 5-HIE korreliert (23).

Auch in dieser Versuchsreihe mit oraler Serotoninapplikation lassen sich sogenannte "Früh- und Spätausscheider" differenzieren, für welche diese Korrelation zutrifft. Bei wiederholter 5-HT-Belastung an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, mit oder ohne Zufuhr des MAO-Hemmers, wird in den vorliegenden Fällen dieser Stoffwechseltyp im wesentlichen beibehalten.

5.) Die Enzymhemmung durch i.v. appliziertes Nialamid setzt bereits während der Infusion ein. Die Werte der 5-HIE-Ausscheidung im Harn unterscheiden sich signifikant von den Kontrollen bereits 30 Min. nach Serotonin-Ingestion, d.h. 1 1/2 Stunden nach Beginn der Nialamid-Infusion. Maxima und Verlauf der 5-HIE-Ausscheidungskurven pro Zeiteinheit werden unter MAO-Hemmung nicht sicher verändert, wenn auch die in Tabelle 2 aufgeführten Fälle 1 u. 4 geringe zeitliche Verschiebungen aufweisen.

Diskussion:

In früheren Untersuchungen wurde die Basalausscheidung der 5-HIE, ihre Veränderung nach i.v. 5-HTP-Belastung und die Korrelation der Wiederfindungsquoten und -raten mit der Basalausscheidung untersucht. Hierbei zeigte sich, daß die Dekarboxylierung der Aminosäure 5-HTP und die oxydative Desaminierung von Serotonin beim Menschen ausserordentlich rasch ablaufen (24). Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Serotoninstoffwechsel schien es daher von Interesse, die Dynamik der Aminumsetzung bei oraler Belastung und ihre Beeinflussung durch MAO-Hemmung zu untersuchen. Entsprechende Serotonindosen sollten wegen der zu erwartenden Nebenwirkungen beim Menschen nicht i.v. appliziert werden. Wesentliche Unterschiede im dynamischen Verhalten der 5-HIE-Ausscheidung scheinen zwischen der Infusion von 5-HTP und der oralen Applikation von HT nicht vorzuliegen. Bei beiden Applikationsformen lassen sich "Früh- und Spätausscheider" differenzieren. Die Korrelation zur Höhe der Rückgewinnung scheint allerdings bei oraler Serotoninbelastung nicht so eng zu sein, wie nach i.v.-Applikation von 5-HTP. Zusätzliche Einflüsse der enteralen Resorption und ein wahrscheinlich selektiver Abbau von oral appliziertem 5-HT im Gastrointestinaltrakt (9) sind zu diskutieren. Mit der unterschiedlichen Applikationsweise läßt sich auch der Befund erklären, daß die 5-HIE-Ausscheidung unter Nialamid bei oraler Gabe von Serotonin im Gegensatz zur i.v.-Applikation von 5-HTP nicht bis auf die Basalwerte absinkt. Die Dynamik des Umsatzes von 5-HTP bzw. 5-HT wird offenbar nicht wesentlich verändert, wenn die nahezu ubiquitäre, durch hohe Wechselzahl charakterisierte und wenig spezifische Monaminooxydase

teilweise blockiert ist, d.h., die Restaktivität des Enzyms bzw. der Isoenzyme reicht offenbar aus, den zeitlichen Ablauf der Serotoninumsetzung in charakteristischer Weise aufrecht zu erhalten. Geringe zeitliche Verschiebungen des Maximums der 5-HIE-Ausscheidung bei Belastungen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen sind jedoch möglich. Auffallenderweise verändern sich dabei auch die 5-HIE-Werte während der 20-Stunden-Nachperiode (Fall 1 und 4 in Tab. 2). Aus Verlaufsbeobachtungen der 5-HIE-Ausscheidungen über mehrere Wochen ist uns bekannt, daß diese periodisch mit Wechsel von hoch- zu tiefnormaler 5-HIE-Ausscheidung verläuft (TAUTZ, unveröffentlicht). Nimmt man an, daß die 5-HIE-Ausscheidung in dieser Nachperiode annähernd den Basalwerten entspricht (20), so läßt sich eine Änderung im Typ der Basalausscheidung von hoch- zu niedrignormaler und umgekehrt von niedrig- zu hochnormaler 5-HIE-Ausscheidung und die damit korreliert veränderte Stoffwechseldynamik diskutieren. Die Basalausscheidung der endogenen 5-HIE bildet daher kein sicheres Kriterium zur Beurteilung pharmakologischer Eingriffe.

Für die Beurteilung der Wirkungsintensität von Stoffwechselinhibitoren im Serotoninbelastungsversuch ist dieser bisher nicht berücksichtigte Faktor zu beachten.

Zusammenfassung:

Das Verhalten der 5-Hydroxyindolessigsäure-Ausscheidung im Harn wurde unter Belastung mit 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) und Serotonin (5-HT) bei Hemmung der Monoaminoxydase (MAO) durch kurzzeitige Fraktionierung an 13 Probanden mit über 250 Einzelbestimmungen geprüft.

Endogenes, aus 5-HTP endogen gebildetes, und oral appliziertes (exogenes) Serotonin werden dabei quantitativ unterschiedlich beeinflußt.

Der MAO-Inhibitor läßt keine sichere Beeinflussung der untersuchten Stoffwechselkinetik des Aminumsatzes beim Menschen erkennen.

Literaturverzeichnis

1.) BRODIE, B.B. and SHORE, P.A.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 66, 631 (1957)

2.) CARLSSON, A., LINDQUIST, M. and MAGNUSSON, T.
Nature 180, 1200 (1957)

3.) DEWHURST, W.G. and PARE, C.M.B.
J. Mental Sci. 107, 239 (1962)

4.) HIPPIUS, H. u. JANTZ, H.
Nervenarzt 30, 466 (1955)

5.) HOLTZ, P., BALZER, H., WESTERMANN, E. u. WEZLER, E.
Arch. exper. Path. Pharmacol. 231, 333 (1957)

6.) HORITA, A.,
J. Pharmacol. exper. Therap. 122, 176 (1958)

7.) KIRBERGER, E.
Dtsch. med. Wschr. 87, 929 (1962)

8.) KIRBERGER, E.
Nature (Lond.) 197, 1211 (1963)

9.) LEVINE, R.J. and SJOERDSMA, A.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.) 109, 225 (1962);
Clin. Pharmacol. Therap. 4, 22 (1963)

10.) PLETSCHER, A. and BESENDORF, H.
Experientia 15, 25 (1959)

11.) PLETSCHER, A., GEY, K.F. u. ZELLER, P.
Fortschr. Arzneimittelforschung 2, 417 (1960)

12.) PRAAG, H.M. van,
In The Clinical Chemistry of Monoamines
Western European Symposia on Clinical Chemistry 2,
Elsevier Publ. Co., Amsterdam 1963

13.) PRAAG, H.M. van u. LEIJNSE, B.
Psychopharmacol. 3, 202 (1962)

14.) ROBITZEK, E., SELIKOFF, H.I.J. and ORNSTEIN, G.G.
zit. nach ZETLER

15.) ROWE, R.P., BLOOM, B.M. P'an, S.Y. and FINGER, K.F.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 101, 832 (1959)

16.) SCHMID, E.
Chemotherapia 4, 255 (1962)

17.) SCHMID, E., HAAS, H., HENNING, N., MEYTHALER, K. u.SCHÖN, H.
Klin. Wschr. 40, 1229 (1962)

18.) SCHMID, E., STÖRMER, I.D., HAAS, H., TAUTZ, N.A. u. SCHÖN, H.
Arzneimittelforsch. (im Druck)

19.) SCHÖN, H., ORDNUNG, W. u. SCHMID, E.
Klin. Wschr. 38, 405 (1960)

20.) SJOERDSMA, A., GILLESPIE, L. jr. and UDENFRIEND, S.
Lancet II 159 (1958)

21.) SJOERDSMA, A., OATES, I.A. and GILLESPIE, L. jr.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.) 103, 485 (1960)

22.) SPECTOR, S., SHORE, P.A. and BRODIE, B.B.
J. Pharmacol. exper. Biol. Med. 103, 680 (1960)

23.) TAUTZ, N.A., BENTE, D., SCHMID, E. u. SCHMID-CLAUDY, E.
Med. exp. 9, 313 (1963)

24.) TAUTZ, N.A., SCHMID, E. u. BENTE, D.
Arzneimittelforsch. 14, 505 (1964)

25.) TEDESCHI, D.H., TEDESCHI, R.E. and FELLOWS, E.J.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 103, 680 (1960)

26.) UDENFRIEND, S., TITUS, E. and WEISSBACH, H.
J. Biol. Chem. 216, 499 (1955)

27.) UDENFRIEND, S., WEISSBACH, H. and BOGDANSKI, D.F.
J. Pharmacol. exper. Therap. 120, 255 (1957)

28.) ZELLER, E.A. and BARSKY, J.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 81, 459 (1952)

29.) ZELLER, E.A., BARSKY, J., BERMAN, E.R. and FOUTS, J.R.
J. Lab. Clin. Med. 40, 965 (1952)

30.) ZELLER, E.A., BARSKY, J., FLUTS, J.R., KIRCHHEIMER, W.F. and van ORDEN, L.S.
Experientia 8, 349 (1952)

31.) ZETLER, G.
Dtsch. med. Wschr. 2276 (1960)

Tab.1

Pat.	Leer-wert	5-HT Kontrolltag		5-HT + Nialamid		5-HT, 1.Nachtag		5-HT, 2.u.3.Nachtag	
	24 Std.	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.
I	1.6	19.9	24.2	0.2	3.7	10.3	18.2	10.6	16.8
II	0.9	8.5	32.8	1.9	6.9	6.2	11.4	8.7	30.6
III	8.8	22.6	30.0	7.5	10.5	7.6	23.8	10.8	16.7
IV	1.3	12.5	20.0	0.7	2.7	12.0	13.5	9.2	21.9
V	3.6	19.1	26.1	2.2	4.3	12.2	16.3	16.0	24.6

Leerwerte, sowie 4- bzw. 24-Stunden-Werte der 5-HIE (mg) bei Serotoninbelastung vor, während und nach i.v.-Applikation von Nialamid

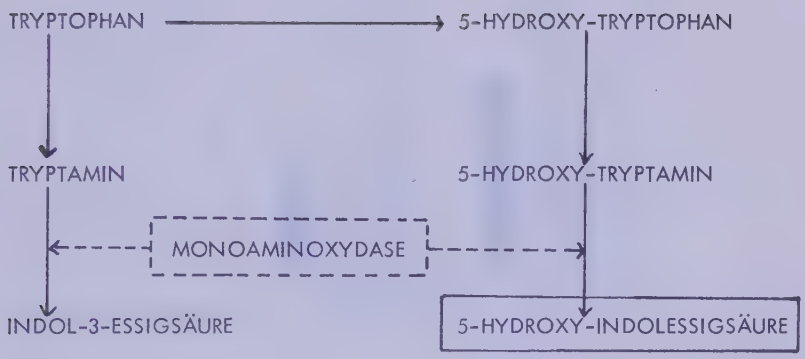
Tab.2

	Kontrolle Harnfraktionen									Nialamid Harnfraktionen								
Pat.	15′	15′	15′	15′	30′	30′	60′	60′	20^h	15′	15′	15′	15′	30′	30′	60′	60′	20^h
VI	0.1	0.2	2.8	3.0	2.45	**4.1**	1.75	0.43	0.04	0.2	0.7	**1.0**	0.7	0.55	0.85	0.55	0.25	0.07
VII	0.5	-	0.8	**2.1**	1.3	1.65	1.1	0.23	0.03	0.3	-	1.8	**2.3**	0.85	1.05	-	0.18	0.03
VIII	0.7	1.2	1.6	1.4	2.8	**2.85**	1.0	0.68	0.04	-	0.3	0.4	1.1	1.15	**1.9**	0.33	0.25	0.02
IX	4.2	**5.6**	3.2	3.4	1.4	1.6	0.18	0.33	0.07	0.5	1.7	1.0	**2.0**	1.9	0.5	0.8	0.23	0.02
X	0.6	1.8	3.5	**4.2**	2.3	1.85	0.8	0.65	0.03	0.3	1.2	1.0	**1.9**	1.25	0.2	0.83	0.2	0.02

Ausscheidung der 5-HIE (mg/15 min.) vor bzw. während i.v. Infusion von 500 mg Nialamid bei 5-HT-Belastung per os an 2 aufeinanderfolgenden Tagen.

[ ] = Maxima der 5-HIE-Werte.

Abb. 1



SCHEMA DES SEROTONINSTOFFWECHSELS

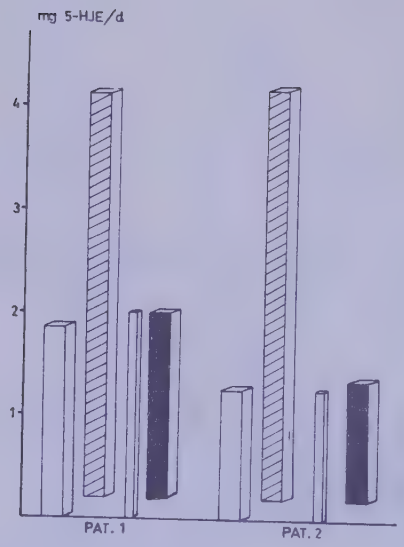


Abb.2

Mittelwerte der 5-HIE-Ausscheidung
Leerwerte: Weiße Säulen (Mittel aus 6 Tagen bzw. 1 Leertag)
5-HTP-Belastung i.v.: Schraffierte Säulen (6 Tage)
5-HTP-Belastung + Nialamid: schwarze Säulen (8 Tage)

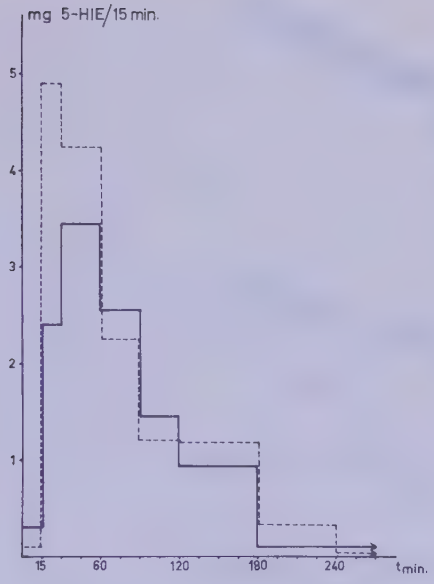


Abb.3

Werte der 5-HIE in Sammelharnfraktionen (15 Min.) bei Serotoninbelastungen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen

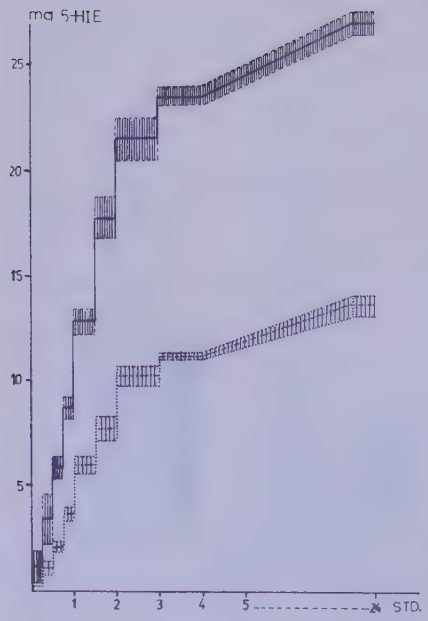


Abb.4

Summationskurven der 5-HIE-Ausscheidung und Streubereich nach Serotoninbelastung.
Kontrollen ———
Nialamid-Infusion .....

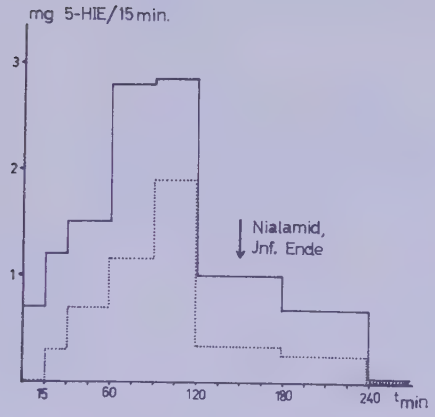


Abb. 5

Dynamik des Serotoninumsatzes, beurteilt anhand der 5-HIE-Ausscheidung.
Pat. VIII (Tab. 2), "Spätausscheider" mit niedriger Wiederfindung der 5-HIE.
——— Kontrollbelastung mit 5-HT per os,
····· Belastung + Nialamid

Mein besonderer Dank gilt den Herren
Privatdozent Dr.med. E. Schmid
und Dr.med. N.A. Tautz
für die jederzeit bereitwillig gewährte
Unterstützung und wertvolle Beratung
bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Herrn Professor Dr.med. N. Henning
möchte ich für die freundliche Überlassung
des Themas meiner Dissertation und die
Übernahme des Referates ergebenst danken.

Lebenslauf

Am 25.12.1938 wurde ich als Tochter des Staatsanwaltes Hanns Benker und seiner Ehefrau Gretl, geb. Bauer, in Nürnberg geboren und am 28.12.38 nach ev. Ritus getauft.

Nachdem ich am 18.7.1957 die Reifeprüfung am humanistischen Gymnasium in Schweinfurt abgelegt hatte, begann ich im Wintersemester 1957/58 das Studium der Medizin an der Universität Würzburg, wo ich das Vorphysikum und Physikum ablegte. Im Mai 1961 begann ich das erste klinische Semester an der Universität Erlangen-Nürnberg. Nach sechs klinischen Semestern beendete ich am 20.8.64 das Studium der Medizin mit dem Staatsexamen.

Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5